



(19)

(11) Publication number: 2001296288 A

Generated Document.

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(21) Application number: 2000116437

(51) Int'l. Cl.: G01N 30/48 C07B 57/00 C07C 29/76  
C07C 33/40 C07C 45/79 C07C 49/83

(22) Application date: 18.04.00

(30) Priority:

(43) Date of application publication: 26.10.01

(84) Designated contracting states:

(71) Applicant: DAICEL CHEM IND LTD

(72) Inventor: ONISHI ATSUSHI  
FUTAGAWA TORU

(74) Representative:

## (54) FILLER FOR OPTICAL ISOMER SEPARATION FOR LIQUID CHROMATOGRAPHY

## (57) Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a filler and a column for liquid chromatography, giving superior optical isomer separation relative to an object compound.

**SOLUTION:** In this filler for optical isomer separation for liquid chromatography, made of a polysaccharide derivative carrying filler as a main component and a column in which the filler is filled, a TS coefficient defined by the following formula (I) is in the range of 0.25 to 1.0. TS coefficient=[ $V_c - [t(TS) - t(blank)] \times FR]$  / [ $t(TS) - t(blank)$ ] × ER (I) [In the formula, abbreviations mean  $V_c$  (cm<sup>3</sup>): a column volume, FR (ml/min.): a flow velocity,  $t(TS)$  (min.): an elution time of Tetrakis(trimethylsilyl)silane(=TS), and  $t(blank)$ (min.): elution time for TS in the state with the column not connected].

COPYRIGHT: (C)2001,JPO

TS係数 =  $\frac{[V_c - [t(TS) - t(blank)] \times FR]}{[t(TS) - t(blank)] \times ER}$  (I)  
 [註]、 $V_c$  (cm<sup>3</sup>) : カラム容積、FR (ml/min.) : 流速、 $t(TS)$  (min.) : TSの溶出時間、 $t(blank)$  (min.) : カラムを接続しない状態でのTSの溶出時間を示す。]

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2001-296288

(P2001-296288A)

(43)公開日 平成13年10月26日 (2001.10.26)

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>  
G 0 1 N 30/48

識別記号

F I  
G 0 1 N 30/48

テ-マコト<sup>\*</sup>(参考)  
W 4 H 0 0 6  
N

C 0 7 B 57/00

3 4 0  
3 4 3  
3 5 0

C 0 7 B 57/00  
3 4 0  
3 4 3  
3 5 0

審査請求 有 請求項の数10 O.L (全 8 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000-116437(P2000-116437)

(71)出願人 000002901

ダイセル化学工業株式会社  
大阪府堺市鉄砲町1番地

(22)出願日 平成12年4月18日 (2000.4.18)

(72)発明者 大西 敏  
茨城県つくば市千現1丁目14-14

(72)発明者 二川 亨  
兵庫県姫路市飾磨区今在家4丁目85-1-301

(74)代理人 100063897  
弁理士 古谷 騎 (外3名)  
Fターム(参考) 4H006 AA02 AC83 AD17 FC54 FE11  
FE71 FE74

(54)【発明の名称】 液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤

(57)【要約】

【課題】 目的化合物に対して、良好な光学異性体分離を与える液体クロマトグラフィー用充填剤及びカラムの提供。

\*とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤並びにこれを充填したカラムにおいて、下式(I)で定義されるTS係数が0.25から1.0の範囲である。

【解決手段】 多糖誘導体担持充填剤を主たる構成要素\*

$$TS \text{ 係数} = [V_c - [t(TS) - t(\text{blank})]] \times FR / [t(TS) - t(\text{blank})] \times FR \quad (I)$$

[式中、 $V_c$  (cm<sup>3</sup>) : カラム体積、 $FR$  (ml/min.) : 流速、 $t(TS)$  (min.) : Tetrakis(trimethylsilyl)silane (= TS)の溶出時間、 $t(\text{blank})$  (min.) : カラムを接続しない状態でのTSの溶出時間を示す。]

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 多糖誘導体担持充填剤を主たる構成要素とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤において、当該充填剤をスラリー充填法によりカラム\*

$$TS\text{ 係数} = [Vc - [t(TS) - t(\text{blank})]] \times FR / [t(TS) - t(\text{blank})] \times FR \quad (1)$$

[式中、 $Vc$  (cm<sup>3</sup>) : カラム体積

$FR$  (ml/min.) : 流速

$t(TS)$  (min.) : Tetrakis(trimethylsilyl)silane (=TS)  
の溶出時間

$t(\text{blank})$  (min.) : カラムを接続しない状態でのTSの溶出時間[示す。]

【請求項2】 多糖誘導体がセルロース又はアミロースのエステル誘導体あるいはカルバメート誘導体である請求項1記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤。

【請求項3】 光学純度測定を目的に使用される分析用カラムに供される充填剤である請求項1記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤。

【請求項4】 光学活性体取得を目的とする単カラム方式の分取に使用される分取用カラムに供される充填剤である請求項1記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤。

【請求項5】 連続式液体クロマトグラフィーの分取用カラムに供される充填剤である請求項1記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤。

【請求項6】 多糖誘導体担持充填剤を主たる構成要素とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラムにおいて、請求項1記載の式(1)で定義されるTS係数が0.25から1.0の範囲であることを特徴とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラム。

【請求項7】 多糖誘導体がセルロース又はアミロースのエステル誘導体あるいはカルバメート誘導体である請求項6記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラム。

【請求項8】 光学純度測定を目的に使用される分析用カラムである請求項6記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラム。

【請求項9】 光学活性体取得を目的とする単カラム方式の分取に使用される分取用カラムである請求項6記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラム。

【請求項10】 連続式液体クロマトグラフィーの分取用カラムである請求項6記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラム。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は光学異性体の分離、特に液体クロマトグラフィー法による光学異性体の分離に用いられる充填剤及びカラムに関するものであり、特に医薬品、食品、農薬、香料等の分析において、幅広いキラル化合物を、高い分離係数をもって光学分割する光

\*管に充填した液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラムを用いて得られる下式(1)で定義されるTS係数が0.25から1.0の範囲であることを特徴とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤。

学異性体分析技術に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】 有機化合物には物理的、化学的性質、例えば沸点、融点、溶解度といった物性が全く同一であるが、生理活性に差がみられる光学異性体が多く存在する。生体はL-アミノ酸からなるタンパク質で構成されており、これらタンパク質が構築する高次の不斉空間による有機化合物の認識の差が生理活性の差として発現する。医薬品の場合では生体内の特定の受容体との結合のし易さによる薬理活性の違いがよく研究されており、光学異性体の間で薬効、毒性の点で顕著な差が見られるケースが良く知られている。このため厚生省は医薬品製造指針においては「当該薬物がラセミ体である場合には、それぞれの異性体について、吸収、分布、代謝、排泄動態を検討しておくことが望ましい」と記載している。

【0003】 先に述べたように光学異性体の物理的、化学的性質、例えば沸点、融点、溶解度といった物性は全く同一であるために、通常の分離手段では分析が行えないため、幅広い種類の光学異性体を簡便に、かつ精度良く分析する技術の研究が精力的に行われた。そしてこれら要求に応える分析手法として高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)による光学分割法、特にHPLC用キラルカラムによる光学分割方法が進歩した。ここで言うキラルカラムとは不斉識別剤そのもの、あるいは不斉識別剤を適当な担体上に担持させたキラル固定相が使用されている。例えば光学活性ポリメタクリル酸トリフェニルメチル(特開昭57-150432号公報参照)、セルロースあるいはアミロース誘導体(Y. Okamoto, M. Kawashima and K. Hatada, J. Am. Chem. Soc., 106, 5337, 1984)、タンパクであるオボムコイド(特開昭63-307829号公報)等が開発されている。

【0004】 これら多くのHPLC用キラル固定相の中でも、セルロースあるいはアミロース誘導体をシリカゲル上に担持させた光学分割用カラムは、極めて幅広い化合物に対し、高い不斉識別能を有することが知られており、さらに近年では、こういったHPLC用キラル固定相と疑似移動床法を組み合わせた工業規模での光学活性体液体クロマト法分取の検討が進められている(Pharm Tech Japan, vol. 12, 43(1996))。

【0005】 こういった背景のもと、クロマト分取生産性を向上させるために、目的化合物に対して、切れの良い分離を与えるキラル固定相がますます求められており、高いクロマト効率を得る工夫が種々に凝らされている。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、多糖誘導体を不斉識別剤とした光学異性体分離用充填剤に関して鋭意研究を行った結果、本発明に達した。

【0007】即ち本発明は、多糖誘導体担持充填剤を主たる構成要素とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤において、当該充填剤をスラリー充填法\*

$$TS\text{ 係数} = [Vc - [t(TS) - t(\text{blank})]] \times FR / [t(TS) - t(\text{blank})] \times FR \quad (1)$$

[式中、 $Vc$  (cm<sup>3</sup>) : カラム体積

$FR$  (ml/min.) : 流速

$t(TS)$  (min.) : Tetrakis(trimethylsilyl)silane (=TS) の溶出時間

$t(\text{blank})$  (min.) : カラムを接続しない状態でのTSの溶出時間を示す。]

## 【0009】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。

【0010】本発明に用いられる多糖誘導体は、多糖と、その水酸基と反応しうる官能基を有する化合物とを反応させることにより得られる。

【0011】本発明に用いられる多糖としては合成多糖、天然多糖及び天然物変成多糖のいずれかを問わず、光学活性であればいかなるものでもよいが、好ましくは結合様式の規則性の高いものが望ましい。例示すれば $\beta-1, 4$ -グルカン(セルロース)、 $\alpha-1, 4$ -グルカン(アミロース、アミロペクチン)、 $\alpha-1, 6$ -グルカン(デキストラン)、 $\beta-1, 6$ -グルカン(ブスツラン)、 $\beta-1, 3$ -グルカン(例えばカードラン、シゾフィラン等)、 $\alpha-1, 3$ -グルカン、 $\beta-1, 2$ -グルカン(Crown Gall多糖)、 $\beta-1, 4$ -ガラクトン、 $\beta-1, 4$ -マンナン、 $\alpha-1, 6$ -マンナン、 $\beta-1, 2$ -フラクトン(イヌリン)、 $\beta-2, 6$ -フラクトン(レパン)、 $\beta-1, 4$ -キシラン、 $\beta-1, 3$ -キシラン、 $\beta-1, 4$ -キトサン、 $\alpha-1, 4$ -N-アセチルキトサン(キチン)、フルラン、アガロース、アルギン酸等であり、アミロースを含有する澱粉も含まれる。これらの中では、高純度の多糖を容易に入手できるセルロース、アミロース、 $\beta-1, 4$ -キシラン、 $\beta-1, 4$ -キトサン、キチン、 $\beta-1, 4$ -マンナン、イヌリン、カードラン等が好ましく、特にセルロース、アミロースが好ましい。

【0012】これら多糖の数平均重合度(1分子中に含まれるピラノースあるいはフラノース環の平均数)は5以上、好ましくは10以上であり、特に上限はないが、1000以下であることが取り扱いの容易さの点で望ましい。

【0013】また水酸基と反応しうる官能基を有する化合物としてはイソシアニ酸誘導体、カルボン酸、エステル、酸ハロゲン化物、酸アミド化合物、ハロゲン化合物、アルデヒド、アルコールあるいはその他脱離基を有

\*によりカラム管に充填した液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラムを用いて得られる下式(1)で定義されるTS係数が0.25から1.0の範囲であることを特徴とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤、並びにこれを充填したカラムを提供するものである。

## 【0008】

する化合物であればいかなるものでもよく、これらの脂肪族、脂環族、芳香族、ヘテロ芳香族化合物を用いることができる。本発明に用いられる多糖誘導体として特に好ましいのは、1グルコースユニットあたり0.1個以上のウレタン結合又はエステル結合を有する多糖のカルバメート誘導体あるいはエステル誘導体である。

【0014】本発明の多糖誘導体担持充填剤とは、担体上に塗布させた多糖誘導体を原料に用い、担体と塗布された多糖誘導体間の化学結合、担体上の多糖誘導体同士の化学結合、第三成分を使用した化学結合、担体上の多糖誘導体への光照射、 $\gamma$ 線などの放射線照射、マイクロ波などの電磁波照射などによって引き起こされる反応、ラジカル開始剤などを用いるラジカル反応などによって、さらなる化学結合を形成せしめることで、より強固な固定化を施された充填剤も含まれる。さらに担体上に塗布させた多糖誘導体を用いず、直接に多糖、もしくは多糖誘導体とシリカゲルなどの担体を化学結合させる方法で作製される多糖誘導体担持充填剤も含まれる。また、多糖誘導体担持充填剤を主たる構成要素とする光学異性体分離用充填剤とは、上述の多糖誘導体担持充填剤と他種の光学異性体分離用充填剤もしくは例えばオクタデシル表面処理されたシリカゲルなどの光学異性体分離用でない充填剤との混合物を言う。

【0015】本発明に用いられる担体としては、多孔質有機担体又は多孔質無機担体が挙げられ、好ましくは多孔質無機担体である。多孔質有機担体として適当なものは、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート等からなる高分子物質であり、多孔質無機担体として適当なものは、シリカ、アルミナ、マグネシア、ガラス、カオリソ、酸化チタン、ケイ酸塩、ヒドロキシアパタイトなどである。特に好ましい担体はシリカゲルであり、シリカゲルの粒径は0.1 μm~10 nm、好ましくは1 μm~300 μmであり、平均孔径は10 Å~100 μm、好ましくは50 Å~50000 Åである。表面は残存シラノールの影響を排除するために表面処理が施されていることが望ましいが、全く表面処理が施されていても問題ない。

【0016】本発明においてTS係数算出にあたっては、カラムを液体クロマトグラフ装置に接続した状態と接続しない状態におけるテトラキス(トリメチルシリル)シラン(以下TSという)の溶出時間を測定し、得られた溶出時間を用い、上記式(1)で定義されるTS

係数を算出する。この測定の際に用いられる分析装置はHPLC装置であり、使用される検出器としてはTSの溶出が確認できるRI検出器、UV検出器などがあるが、特にはUV検出器を用い波長210nmで検出することが好ましい。

【0017】分析条件としては順相条件、すなわち疎水性溶剤を主たる構成要素とする移動相条件にて実施する。具体的にはn-ヘキサン/2-プロパノール=9/1(v/v)の組成比の移動相である。また分析温度は室温(25℃)であり、流速はカラム体積Vc(cm<sup>3</sup>)の4分の1~9分の1、特に4.15分の1、すなわち[Vc×(1/4.15)]ml/min.が好ましい。さらにTSの打込み量は、移動相にTSを5.0mg/ml濃度で溶解させたTS溶液をカラム体積の300分の1~600分の1の体積量、特に415分の1の体積量、すなわち[Vc×(1/415)]ml打込むことが望ましい。

【0018】本発明においては、上記のようにして算出されたTS係数が0.25から1.0の範囲であることが必要であり、この範囲をはずれると良好な分離性能を得ることができない。

【0019】本発明の充填剤は、ガスクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、超臨界クロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動などのクロマトグラフィー法及び膜分離による光学異性体分離に用いるのが一般的であるが、特に液体クロマトグラフィー法に応用するのが好ましい。

【0020】更に本発明の充填剤は、主として光学純度測定を目的に使用される液体クロマトグラフィーの分析用カラム、数mg~数kgの光学活性体取得を目的とする单カラム方式の液体クロマトグラフィーの分取用カラム、擬似移動床方式に代表される連続式液体クロマトグラフィーの分取用カラム等に好ましく使用される。

#### 【0021】

【実施例】以下、本発明を実施例によって詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

#### 【0022】実施例1

TS係数=0.527のアミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

##### ① シリカゲル表面処理

多孔質シリカゲル(粒径20μm、平均細孔径1300Å)を公知の方法により、3-アミノプロピルトリエトキシシランと反応させることによりアミノプロピルシラン処理(APS処理)を施した。得られたAPS処理シリカゲルを3,5-ジメチルフェニルイソシアネートと反応することで、カルバモイル表面処理が施されたシリカゲルを得た。

【0023】② アミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)の合成窒素雰囲気下、アミロ

ース10.0gを乾燥ビリジン360ml中、3,5-ジメチルフェニルイソシアネート82.2g(3当量)とビリジン還流温度下、60時間加熱攪拌を行った後、メタノール6.0Lに注ぎ込んだ。析出した固体はグラスフィルターで濾取し、メタノールで数回の洗浄後、真空乾燥(80℃、5時間)を行った。その結果、若干黄色がかかった白色固体35.3g(95%)が得られた。

【0024】③ アミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)10gを酢酸エチル100mlに溶解させ、このポリマードープの半量を均一に①のシリカゲル40gに塗布した。塗布後、酢酸エチルを50℃、120Torrの条件で20分間の減圧乾燥を行い、さらに残り半量を同様に均一塗布後、先と同じ条件(50℃、120Torr)で20分間の減圧乾燥を行うことで、目的のアミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)担持型充填剤を得た。

【0025】④ 作製充填剤からのHPLC用充填カラム作製

③で作製したアミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ25cm、内径0.46cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

#### 【0026】実施例2

TS係数=0.926のアミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

##### ① シリカゲル表面処理

実施例1の①と同じく、多孔質シリカゲル(粒径20μm、平均細孔径1300Å)にカルバモイル表面処理を施した。

【0027】② アミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)の合成

実施例1の②と同様の手法により、アミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)を作製した。

【0028】③ アミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)52.5gを酢酸エチル489mlに溶解させ、このポリマードープの1/4量を均一に①のシリカゲル97.5gに塗布した。塗布後、酢酸エチルを50℃、120Torrの条件で15分間の減圧乾燥を行い、さらに1/4量を同様に均一塗布後、先と同じ条件(50℃、120Torr)で15分間の減圧乾燥を行った。引続き1/4量を均一塗布後、同条件(50℃、120Torr)で45分間の減圧乾燥し、最後に残り1/4量を均一塗布後、同条件(50℃、120Torr)で45

分間の減圧乾燥することで、目的のアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。

【0029】④ 作製充填剤からのHPLC用充填カラム作製

③で作製したアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ25cm、内径0.46cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

#### 【0030】実施例3

TS係数=0.286のアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

##### ① シリカゲル表面処理

実施例1の①と同じく、多孔質シリカゲル（粒径20μm、平均細孔径1300Å）にカルバモイル表面処理を施した。

【0031】② アミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）の合成

実施例1の②と同様の手法により、アミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）を作製した。

【0032】③ アミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）1.25gを酢酸エチル12.5mlに溶解させ、このポリマードープの全量を均一に①のシリカゲル11.25gに塗布した。塗布後、酢酸エチルを50℃、120Torrの条件で15分間の減圧乾燥を行うことで、目的のアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。

【0033】④ 作製充填剤からのHPLC用充填カラム作製

③で作製したアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ25cm、内径0.46cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

#### 【0034】実施例4

TS係数=0.696のアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

##### ① シリカゲル表面処理

実施例1の①と同じく、多孔質シリカゲル（粒径20μm、平均細孔径1300Å）にカルバモイル表面処理を施した。

【0035】② アミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）の合成

実施例1の②と同様の手法により、アミロース トリス

（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）を作製した。

【0036】③ アミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）50.25gを酢酸エチル43.7.2mlに溶解させ、このポリマードープの1/3量を均一に①のシリカゲル117.25gに塗布した。塗布後、酢酸エチルを50℃、120Torrの条件で15分間の減圧乾燥を行った。引続きポリマードープの1/3量を同様に塗布後、酢酸エチルを同条件にて15分間の減圧乾燥し、残り1/3量を均一塗布後、酢酸エチルを25分間の減圧乾燥により減圧留去を行うことで、目的のアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。

【0037】④ 作製充填剤からのHPLC用充填カラム作製

③で作製したアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ25cm、内径0.46cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

#### 【0038】実施例5

TS係数=0.379のアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

##### ① シリカゲル表面処理

実施例1の①と同じく、多孔質シリカゲル（粒径20μm、平均細孔径1300Å）にカルバモイル表面処理を施した。

【0039】② アミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）の合成

実施例1の②と同様の手法により、アミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）を作製した。

【0040】③ アミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）27.0gを酢酸エチル270mlに溶解させ、このポリマードープの1/2量を均一に①のシリカゲル153.0gに塗布した。塗布後、酢酸エチルを50℃、120Torrの条件で15分間の減圧乾燥を行った。引続きポリマードープの1/2量を同様に塗布後、酢酸エチルを同条件にて15分間の減圧乾燥、目的のアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。

【0041】④ 作製充填剤からのHPLC用充填カラム作製

③で作製したアミロース トリス（3, 5-ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤

を充填剤として用い、長さ25cm、内径0.46cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

#### 【0042】比較例1

T S係数=1.050のアミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

##### ① シリカゲル表面処理

実施例1の①と同じく、多孔質シリカゲル(粒径20μm、平均細孔径1300Å)にカルバモイル表面処理を施した。

#### 【0043】② アミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)の合成

実施例1の②と同様の手法により、アミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)を作製した。

#### 【0044】③ アミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)2.5gを酢酸エチル18.75mlに溶解させ、このポリマードープの1/4量を均一に①のシリカゲル3.75gに塗布した。塗布後、酢酸エチルを50℃、120Torrの条件で15分間の減圧乾燥を行った。引続きポリマードープの1/4量を同様に塗布後、酢酸エチルを同条件にて30分間の減圧乾燥を行った。さらに、ポリマードープの1/4量を同様に塗布後、酢酸エチルを同条件にて30分間の減圧乾燥を行い、残り1/4量のポリマードープを同様に塗布後、酢酸エチルを同条件にて60分間の減圧乾燥を行うことで、目的のアミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)担持型充填剤を得た。

#### 【0045】④ 作製充填剤からのHPLC用充填カラム作製

③で作製したアミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ25cm、内径0.46cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

#### 【0046】比較例2

T S係数=0.240のアミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

##### ① シリカゲル表面処理

実施例1の①と同じく、多孔質シリカゲル(粒径20μm、平均細孔径1300Å)にカルバモイル表面処理を施した。

#### 【0047】② アミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)の合成

実施例1の②と同様の手法により、アミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)を作製し

た。

【0048】③ アミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)のシリカゲルへの担持  
上記②で得たアミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)125.0gを酢酸エチル125.0mlに溶解させ、このポリマードープの全量を均一に①のシリカゲル2375.0gに塗布した。塗布後、酢酸エチルを50℃、120Torrの条件で10.5分間の減圧乾燥を行うことで、目的のアミローストリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)担持型充填剤を得た。

#### 【0049】④ 作製充填剤からのHPLC用充填カラム作製

③で作製したアミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ25cm、内径0.46cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

#### 【0050】応用例

実施例1～5及び比較例1～2において作製したアミロース トリス(3, 5-ジメチルフェニルカルバメート)をシリカゲル上に担持した充填剤を充填したHPLC用光学異性体分離用カラムを用い、下記条件の液体クロマトグラフィー法によりT Sの溶出時間[t(TS)(min)]を測定し、下記の計算式によってT S係数を算出した。結果を表1に示す。

<液体クロマトグラフィーの分析条件>

移動相：n-ヘキサン/2-プロパノール=9/1(v/v)

流速：1.0ml/min.

温度：25℃

検出：210nm

打込みT S濃度：5.0mg/ml(移動相)

T S打込み量：10μL

<TS係数計算式>

Vc : 0.23×0.23×3.14×25=4.15cm<sup>3</sup>, FR : 1.0ml/min.

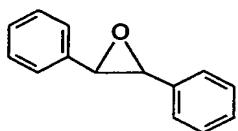
n. t(blank) : 0.16min.

T S係数 = [4.15-[t(TS)-0.16] × 1.0] / [t(TS)-0.16] × 1.0

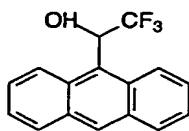
さらに実施例1～5及び比較例1～2において作製したHPLC用光学異性体分離用カラムを用い、ラセミ体である下記式で表される化合物1～4の光学分割を行い、下記式により、各光学活性体の分離の程度を示す指標である分離度R s値を算出した。その結果も表1に示す。

#### 【0051】

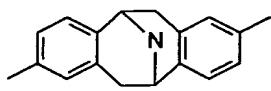
#### 【化1】



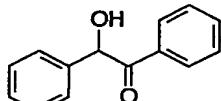
化合物1



化合物2



化合物3



化合物4

\* 【0052】  $R_s = 2 \cdot (t_1 - t_2) / (W_1 + W_2)$

(ここで、 $t_1$ 、 $t_2$ は各光学異性体の溶出時間、 $W_1$ 、 $W_2$ は光学異性体ピークのピーク幅を示す。)

【0053】

【表1】

\*

HPLC用カラム		t(TS) (min)	TS係数	分離度 (Rs)			
				化合物1	化合物2	化合物3	化合物4
実施例	1	2.67	0.527	4.91	1.55	1.98	1.77
	2	2.15	0.926	3.40	1.05	1.44	1.12
	3	3.14	0.286	3.55	1.03	1.21	1.50
	4	2.42	0.696	3.95	1.21	1.63	1.34
	5	2.94	0.379	5.49	1.38	1.90	1.91
比較例	1	2.03	1.050	2.17	0.63	1.01	0.68
	2	3.25	0.240	2.28	0.59	0.65	1.21

【0054】また充填剤のTS係数と化合物1のRs値との関係を図1に、充填剤のTS係数と化合物2～4のRs値との関係を図2に示した。

【0055】以上の結果から、TS係数が0.25から1.0の範囲にある充填剤は、光学異性体の分離性能が良好であることがわかる。

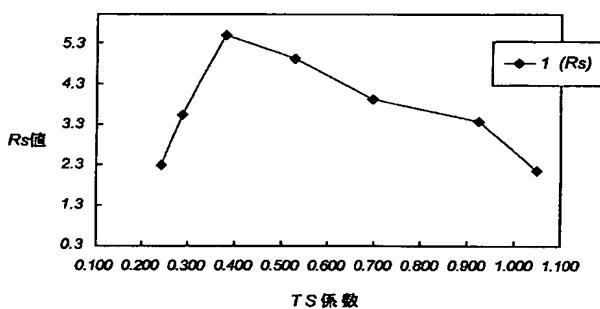
#### 【図面の簡単な説明】

【図1】 充填剤のTS係数と化合物1のRs値との関係を示す図である。

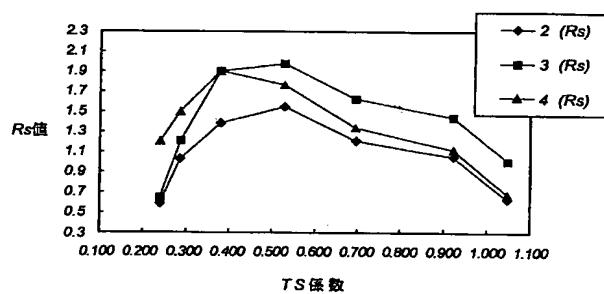
【図2】 充填剤のTS係数と化合物2～4のRs値との関係を示す図である。

30

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	△-マーク (参考)
C 0 7 C	29/76	C 0 7 C	29/76
	33/40		33/40
	45/79		45/79
	49/83		49/83
			Z